

Title	Bcl-xL Affects Group A Streptococcus-Induced Autophagy Directly, by Inhibiting Fusion between Autophagosomes and Lysosomes, and Indirectly, by Inhibiting Bacterial Internalization via Interaction with Beclin 1-UVRAG( Abstract_要旨 )
Author(s)	Nakajima, Shintaro
Citation	Kyoto University (京都大学)
Issue Date	2017-05-23
URL	<a href="https://doi.org/10.14989/doctor.k20566">https://doi.org/10.14989/doctor.k20566</a>
Right	
Type	Thesis or Dissertation
Textversion	ETD

京都大学	博士（医学）	氏 名	中島 慎太郎
論文題目	Bcl-xL Affects Group A <i>Streptococcus</i> -Induced Autophagy Directly, by Inhibiting Fusion between Autophagosomes and Lysosomes, and Indirectly, by Inhibiting Bacterial Internalization via Interaction with Beclin 1-UVRAG (Bcl-xL は、オートファゴソームとリソソームの融合を直接的に、また Beclin 1 および UVRAG との相互作用により細菌の細胞侵入を間接的に阻害することで、A 群レンサ球菌に対して誘導されるオートファジーを制御する)		
(論文内容の要旨)			
<p>オートファジーは、栄養飢餓時に細胞内オルガネラやタンパク質を非選択的に分解することで栄養源の供給を行う生理的システムであるが、同時に、細胞内に侵入した菌の分解排除システムとしても機能している。栄養飢餓時のオートファジー誘導には Beclin 1（Atg6; autophagy-related gene 6 の哺乳類オースログ）、PI3K（Phosphoinositide 3-kinase, Vps34）、Atg14 といった分子からなる PI3K 複合体の形成が必要である。この複合体には細胞死抑制因子である Bcl-2/Bcl-xL が Beclin 1 を介して結合しており、細胞が栄養飢餓に陥るとこの結合が乖離することによって複合体が活性化し、オートファジーが誘導される。一方、細菌感染時のオートファジーは、細胞質中での菌体認識を必要とする選択的な分解機構であることから、栄養飢餓時のオートファジーとは誘導機序が大きく異なることが予想される。A 群レンサ球菌（GAS; Group A <i>Streptococcus</i>）はヒトに咽頭炎、膿痂疹や高い致死率を有する劇症型溶血性レンサ球菌感染症を引き起こす病原性細菌である。GAS は上皮細胞への侵入能を有しており、GAS の侵入によって宿主細胞にはアポトーシスおよびオートファジーの両者が誘導される。このため、GAS 感染時のオートファジー誘導に対しても細胞死抑制因子である Bcl-2/Bcl-xL が何らかの役割を担っている可能性が考えられる。これらの背景から、本研究では、GAS 感染時のオートファジー誘導における Bcl-2/Bcl-xL とこれらの結合分子である Beclin 1-PI3K 複合体の役割を明らかにすることを目的とした。そこで、Bcl-2/Bcl-xL 強発現細胞を用いた解析を行ったところ、Bcl-2 ではなく、Bcl-xL 強発現細胞においてのみ、オートファゴソーム形成率の低下が観察され、この原因として Bcl-xL 強発現細胞への侵入菌数が減少していることが明らかになった。また、Bcl-xL 欠損細胞を用いた解析においては、野生型細胞と比較して、細胞内侵入菌数およびオートファゴソーム形成率の増加が認められた。興味深いことに、オートファゴソームとリソソームの共局在率は全ての感染時間において Bcl-xL 欠損細胞の方が野生型細胞よりも高値であった。一方、Beclin 1 欠損細胞においては、野生型細胞と比べ、細胞内侵入菌数は顕著に減少したが、オートファゴソーム形成率およびオートファゴソーム-リソソームの共局在率に変化は見られなかった。また、免疫沈降法による解析から、PI3K 複合体の構成因子のひとつであり、Beclin 1 に結合することで栄養飢餓時のオートファジー誘導を亢進することが知られている UVRAG（UV-irradiation-resistance-associated gene）が、Beclin 1 だけでなく Bcl-xL とも相互作用することが明らかになった。さらに、Beclin 1 欠損細胞で観察された細胞内侵入菌数の減少は、UVRAG を強発現することで一部補填された。これらの結果より、GAS 感染細胞において、Bcl-xL はオートファゴソームとリソソームの融合を抑制していることがわかった。また、Bcl-xL は Beclin 1 および UVRAG と相互作用することによってエンドサイトーシス経路を抑制し、GAS の細胞内侵入を阻害していることが明らかになった。</p>			

（論文審査の結果の要旨）
<p>オートファジーは、細胞内の恒常性維持や飢餓時における栄養源確保を行う細胞内分解システムであると同時に、ゼノファジーと呼称される細胞内に侵入した病原細菌を分解・除去する免疫システムとしての機能を持つ。栄養飢餓時に誘導されるオートファジーの制御機構については、酵母・培養細胞やマウスを用いた解析により多くの知見が得られているが、ゼノファジーの制御機構に関しては不明な点が多い。本研究ではゼノファジー解析において代表的な Group A <i>Streptococcus</i> (GAS)をモデルとして用いて、細胞死抑制タンパク質の一つである Bcl-xL が GAS の細胞内侵入とオートファゴソーム-リソソーム間の融合を阻害することでゼノファジーを制御していることを示した。Bcl-xL による GAS の侵入阻害は、この分子が PI3K complex の構成要素である Beclin 1 および UVRAG と結合することにより引き起こされていることを共免疫沈降法と Gentamicin protection assay により明らかにした。これらの結果は、Bcl-xL により栄養飢餓時のオートファジーとゼノファジーの両者が制御されていること、しかしながら細胞内の状態によってこの分子が結合する複合体が異なった働きを持つことを示唆するものである。</p> <p>以上の研究は GAS の細胞内侵入とこれにより惹起されるゼノファジーの制御機構の解明に貢献し宿主細胞に対する細胞侵入性細菌の感染制御に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士（ 医学 ）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成 2 9 年 4 月 1 1 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>